

## 論文内容の要旨

### **Region-specific changes in brain kisspeptin receptor expression during estrogen depletion and the estrous cycle**

ラットの脳における Kisspeptin 受容体 mRNA の発現のエストロゲン応答性の  
部位特異性に関する組織化学的研究

日本医科大学大学院医学研究科 皮膚粘膜病態学分野

大学院生 尾崎 紗恵子

Histochemistry and Cell Biology (2019) 掲載予定

## 【背景】

Kisspeptin は、GnRH ニューロンを刺激し、視床下部一下垂体一性腺系(hypothalamo-pituitary-gonadal axis; HPG axis) を活性化することで、哺乳類の生殖機能調節の重要な役割を担っている。Kisspeptin の脳内における発現・分布については多くの先行研究があり、ラットを始めとする多くの動物種において、視床下部弓状核と前腹側室周囲核に局在し、それぞれの部位がエストロゲンによって正反対の制御を受けことや、発現分布に雌雄差があることが知られている。しかし、Kisspeptin 受容体である Kiss1R についてのエストロゲンによる発現調節や性差については十分な検索が行われていない。本研究では、ラットの脳における *Kiss1r* mRNA (以下、*Kiss1r*) の発現にエストロゲンに対する応答性と性差があるのか、及びこれらに対する部位特異性があるのか、*in situ* hybridization を用いて検討することにした。また、*Kiss1r* の発現にエストロゲン受容体(ER  $\alpha$ ) が直接作用するのか、*Kiss1r* を発現する神経細胞における ER  $\alpha$  の発現を免疫染色法を用いて検討した。

## 【方法】

実験動物には 10 週齢の雌雄ウィスターラットを用いた。エストロゲンに対する応答性に関しては、卵巣摘除した OVX 群と卵巣摘除後に高濃度 estradiol を補充した OVX+high-E2 群を用意した。性差に関しては、オス・メス発情前期・メス発情間期の 3 群を用意した。灌流固定した脳を採取した後、凍結切片を作成し、*Kiss1r* mRNA についての *in situ* hybridization を行った。先行実験(Higo et al. 2016)で *Kiss1r* の発現が著明であった diagonal band of Broca(DB)、弓状核(ARC)、室傍核(PVN)における陽性細胞数を数え、上記の群について比較検討した。ER  $\alpha$  と *Kiss1r* の共発現については、*Kiss1r* との共局在が報告されている神経ペプチドと ER  $\alpha$  の共発現率を免疫二重染色法を用いて調べた。すなわち、DB では GnRH と ER  $\alpha$ 、PVN ではオキシトシンと ER  $\alpha$ 、ARC では POMC と ER  $\alpha$  の共発現率を調べた。

## 【結果】

エストロゲンに対する応答性に関しては、ARC 領域で OVX+high E2 群が OVX 群より有意に陽性細胞数が減少していた。他の部位では有意な差はなかった。メスとオスに関しては、脳内全体の発現分布に差はなく、主要 3 部位の陽性細胞数に関しても有意な差はなかった。しかしメスの性周期間では、PVN で発情間期群が発情前期群より優位に減少していた。他の部位では有意な差はなかった。ER  $\alpha$  との共発現に関しては、GnRH と ER  $\alpha$ 、オキシトシンと ER  $\alpha$  は各群 1%以下でほぼ共発現はなかった。POMC と ER  $\alpha$  では共発現を認めたが各群 20%未満であった。

### 【考察】

OVX 群と高濃度エストロゲン投与群間で変化が見られた部位(ARC)と、メス性周期間で見られた部位(PVN)が異なったことから、ラットの脳における *Kiss1r* の発現は画一的に生じるものではなく、部位により複雑に変化することがわかった。一方、顕著な性差がある Kisspeptin とは異なり、*Kiss1r* の発現分布には性差がないことを明らかにした。二重染色の結果から ER $\alpha$  と *Kiss1r* の共発現率は低いと示唆された。これらのことから、今回の実験で観察された *Kiss1r* の発現の変化は、エストロゲンの間接的な作用もしくは OVX によって生じる内的環境変動が関わってくる可能性が示唆された。性分化および性周期においてキスペプチンシグナルがどのように変化するのか、さらなる研究の重要性も見出された。